FLUORESZENZSEROLOGISCHER NACHWEIS VON ANTIKÖRPERN GEGEN MUSKELGEWEBE DES MENSCHEN UND DER RATTE

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität
zu Bonn

vorgelegt von
MICHAEL DOKTOR
aus Bochum

Bonn 1976

FLUORESZENZSEROLOGISCHER NACHWEIS VON ANTIKÖRPERN GEGEN MUSKELGEWEBE DES MENSCHEN UND DER RATTE

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität
zu Bonn

vorgelegt von
MICHAEL DOKTOR
aus Bochum

Bonn 1976

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. Dengler
2. Gutachter: Prof. Dr. Rittner

Tag der mündlichen Prüfung: 24. Februar 1976

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. Dengler

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Druck: Richard Schwarzbold, 5305 Witterschlick b. Bonn

I. Einleitung und Problemstellung
II. Material, Methode und Patientenkollektiv
1. Zusammenstellung aller verwendeten Materialien
2. Methode und Durchführung der indirekten Immunfluoreszenz
3. Patientenkollektiv: Anzahl der untersuchten Patienten und Eingliederung in verschiedene Krankheitsgruppen
4. Kontrollen
a. Verwendung von 0,9% steriler NaCl-Lösung anstelle des Patientenserums
b. Normalseren
c. CRP - Teste
5. Statistische Methoden zur Versuchsauswertung
a. allgemeine Grundlagen
b. $\hat{\chi}^2$ - Test
c. Kontingenzkoeffizient nach Pearson
d. Fisher - Test
III. Ergebnisse
1. Vergleichende Gewebsuntersuchungen auf Antikörper gegen Herzmuskulatur, Skelettmuskulatur und Magengewebe der Ratte, menschliche Herz- und Skelettmuskulatur unter Berücksichtigung des Krankheitsbildes:
a. Lebererkrankungen
b. Postmyokardiotomie-Syndrom
c. Herzinfarkt
d. Myokarditis
2. Vergleichende Untersuchungen auf Antikörper an verschiedenen Geweben ohne Berücksichtigung des Krankheitsbildes
3. Zusammenfassende Darstellung der Einzelergebnisse
4. Kontrollen
a. Normalseren
b. CRP - Teste
IV. Diskussion
V. Zusammenfassung
VI. Literaturverzeichnis

I. Einleitung:

Der fluoreszenz-optische Nachweis von Antikörpern hat in den letzten Jahren zunehmend Eingang in die klinische Diagnostik gefunden. Antikörper gegen Herzmuskulatur werden gehäuft bei Patienten mit Postmyokardiotomie-Syndrom, nach Herzinfarkt und bei Myokarditis gefunden. Antikörper gegen glatte Muskulatur werden bei chronischen Lebererkrankungen beobachtet, niedertitrig auch bei verschiedenen unspezifischen entzündlichen Erkrankungen.

Nach Kaplan (14) können gegen Herzmuskelgewebe gerichtete Antikörper drei verschiedene Fluoreszenzmuster erzeugen, nämlich eine diffuse Sarkoplasmafluoreszenz, eine Sarkolemm-Subsarkolemm und eine intermyofibriläre Fluoreszenz. Die D-Fluoreszenz wird bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen beobachtet und gilt als unspezifisch. Die intermyofibriläre Fluoreszenz kommt nur selten zur Beobachtung. Damit kommt der Sarkolemm-Subsarkolemm-Fluoreszenz die weitaus größte Bedeutung zu.

Die vorliegende Untersuchung soll klären, inwieweit Seren, die auf Herzmuskelgewebe eine Sarkolemm-Subsarkolemm-Fluoreszenz zeigen, auf glattem Muskelgewebe und auf quergestreiftem Muskelgewebe nachweisbare Antikörper erkennen lassen. Darüberhinaus soll die Frage der Spezifität der verschiedenen Muskelgewebe geklärt werden, was für die Praxis bedeuten kann, ob anstelle des oft nicht erreichbaren frischen menschlichen Herzmuskelgewebes beispielsweise quergestreiftes Muskelgewebe des Menschen oder Herz- bzw. Skelettmuskelgewebe der Ratte diagnostisch verwendet werden kann.

II. 1 Zusammenstellung aller verwendeten Materialien:

A. Gewebsschnitte:

a. Rattengewebe als Frischpräparate aus dem Magen, dem Herzen und Skelettmuskulatur vom Oberschenkel

b. menschliche Gewebe:

1. intra-operationem entnommene Frischpräparate vom Herzen und Skelettmuskulatur aus der Bauchdecke

2. Herz- und Skelettmuskulatur von verstorbenen Patienten, deren Tod nicht länger als 12 h zurücklag

3. Synovia aus dem Hinterlauf der Ratte

B. Fixation mit medizinischem CO_2 - Schnee auf Gefrierblöcken

C. Kryostat System Walter Dittes, Dauertemperatur -20° Celsius

D. Patientenserum, das mit 0,9% NaCl verdünnt wurde

E. Feuchte Kammer

F. Fluoresceinmarkiertes Anti-Immunglobulin (IgG + IgA + IgM H+L-Ketten) von der Ziege (Behring-Werke Marburg), 1:5 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt

G. Borglycerin: 9 Teile Borglycerin
1 Teil physiologische NaCl

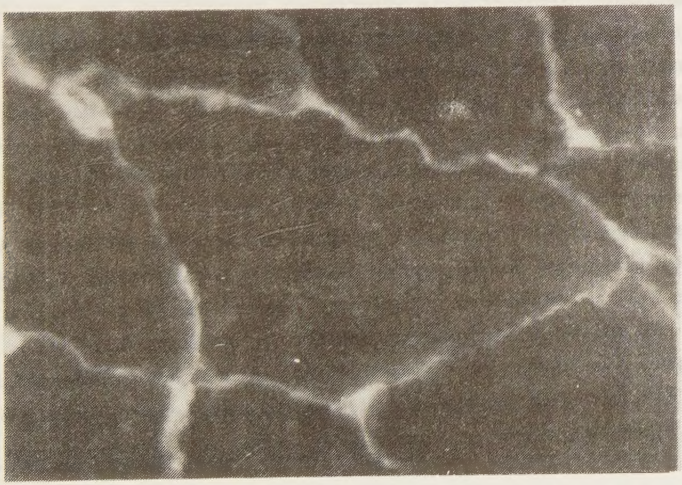
H. Fluoreszenzmikroskop der Fa. Carl Zeiss
Typ: Standard RA, Filter: BG 12

II. 2 Methode und Durchführung der indirekten Immunfluoreszenz

Die fluoreszenzserologischen Untersuchungen wurden mit den unter II.1.A aufgeführten Geweben durchgeführt. Zwei oder drei Gewebe wurden zu Blöcken zusammengestellt.
Sofort nach der Entnahme wurden die Gewebe auf dem Gefrierzylinder mit Kohlensäureschnee fixiert und eine Stunde im Kryostaten zum Temperaturausgleich belassen (-20°C). Es wurden 5µdicke Gefrierschnitte angefertigt und auf Objektträgern eine Stunde bei Zimmertemperatur zur Fixation getrocknet.
Vor dem Auftropfen auf den Schnitt wurde das Patientenserum 1:10 mit steriler 0,9%iger NaCl-Lösung verdünnt, um unspezifische Fluoreszenzen zu vermeiden.
Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur wurden die Objektträger in verschiedenen Gefäßen mit steriler 0,9%iger NaCl 3x10 Minuten gewässert. Der Objektträger wurde anschließend ohne Berührung des Schnittes mit weichem Fließpapier abgewischt und ungefähr 5 Minuten zum Trocknen liegengelassen. Das fluoresceinmarkierte Antihumanglobulin wurde nun mit Pasteurpipetten auf das Präparat aufgetropft und wiederum 30 Minuten inkubiert.
Die Wässerung erfolgte in neu eingefüllter steriler physiologischer NaCl erneut 3x10 Minuten. Anschließend wurde der Objektträger wieder um das Präparat gesäubert und 5 Minuten getrocknet. Die so vorbehandelten Schnitte wurden mit Borglycerin eingedeckt. (24)
Die Beurteilung der Fluoreszenzen im Fluoreszenzmikroskop wurde bei Aufleuchten der Substrate mit + = positiv, bei fehlendem Aufleuchten mit - = negativ bezeichnet.
Durch Einfrieren von Seren geht ein Teil der Antikörperaktivität verloren. (7) Daher kann bei niedertitrigen Antikörpern bei Wiederholungsuntersuchungen ein zuvor positives Ergebnis negativ werden. Hiermit sind kleine zahlenmäßige Differenzen im Vorkommen der Antikörper bei den folgenden Untersuchungen zu erklären.

Als positiver Befund wurde bei den Zellen der glatten Muskulatur des Rattenmagens eine Zytoplasmafluoreszenz gewertet. Bei Verwendung von Skelettmuskulatur und Herzmuskulatur wurden keine Antikörper gegen Zytoplasmabestandteile gefunden, wie dies bei der Myasthenia gravis oder beim Vorkommen von Mitochondrienantikörpern bei primärer biliärer Zirrhose der Fall ist, sondern es wurde die Sarkolemmfluoreszenz und interstitielle Fluoreszenz als ein Hinweis auf Antikörper gegen Interstitium ausgewertet.
Die nachfolgende Photographie zeigt ein Schema des typischen Fluoreszenzmusters bei Herz- und Skelettmuskulatur beider Spezies.

Fluoreszenzmuster



II. 3 Patientenkollektiv: Anzahl der untersuchten Patienten und Eingliederung in verschiedene Krankheitsgruppen

Es wurden Seren von 233 stationären Patienten untersucht. Das Patientenkollektiv setzt sich zusammen aus:

1. 64 Patienten, bei denen klinische Hinweise auf eine Myokarditis bestanden.
2. 37 Patienten mit Lebererkrankungen. Es handelte sich um Patienten mit verschiedenen Formen von Hepathopathien, die in vorhergehenden Routineuntersuchungen einen positiven Nachweis von Antikörpern gegen glatte Muskulatur der Ratte gezeigt hatten. In diese Gruppe wurden akute und chronische, aggressive und persistierende Hepatitiden und Zirrhosen einbezogen. In einigen Seren dieser Patienten mit schwach positivem Nachweis von Antikörpern gegen glatte Muskulatur war jedoch bei späteren Kontrollen der Antikörper nicht mehr nachweisbar, was durch das Einfrieren und Auftauen der Serumproben bedingt sein dürfte.
3. 26 Patienten mit Zustand nach Herzinfarkt. Die Serumproben stammen vom 8.-28. Tag nach dem Infarktgeschehen.
4. 36 Patienten nach herzchirurgischen Eingriffen. Die Seren waren 10-38 Tage nach dem Eingriff abgenommen worden. In mehreren Fällen bestand klinisch ein Postmyokardiotomie-Syndrom.
5. 70 Patienten ohne bekannte Diagnosen. Die Seren wurden aus den Routineuntersuchungen des rheumatologisch-immunologischen Labors entnommen. Aufgrund dieser Tatsache ergibt sich ein Übergewicht rheumatischer Erkrankungen.
6. 62 Seren von gesunden Blutspendern, die freundlicherweise vom Institut für Experimentelle Hämatologie der Universität Bonn überlassen wurden.

II.4.a Kontrollen: Verwendung von 0,9% steriler NaCl-Lösung anstelle des Patientenserums.

Bei jedem Testansatz wurde zur Kontrolle der Spezifität der Fluoreszenz ein Schnitt anstelle von Patientenserum mit physiologischer NaCl beschickt.

II.4.b Normalseren:

Als weitere Kontrolle wurden Seren von normalen Blutspendern des hämatologischen Institutes untersucht und zwar:

56 Seren auf Antikörper gegen Skelettmuskulatur der Ratte
56 Seren auf Antikörper gegen Herzmuskulatur der Ratte
36 Seren auf Antikörper gegen glatte Muskulatur der Ratte
62 Seren auf Antikörper gegen Skelettmuskulatur des Menschen
47 Seren auf Antikörper gegen frisch entnommenen Herzmuskel des Menschen
36 Seren auf Antikörper gegen nicht mehr ganz frischen menschlichen Herzmuskel

II.4.c CRP - Teste:

Da schwach positive Antikörper gegen glatte Muskulatur der Ratte bei zahlreichen entzündlichen Vorgängen beobachtet werden, wurden 26 Seren auf das C-reaktive Protein untersucht und mit den Antikörperbefunden in Beziehung gesetzt.

II.5.a Statistik: allgemeine Grundlagen (17,20)
Man kann davon ausgehen, daß in den Patientenseren mehrere unterschiedliche Antikörper gegen die Gewebearten, die hier ausgetestet wurden, vorliegen. Verschiedene solcher Antikörper mit verwandter antigener Spezifität können gemeinsam in unterschiedlicher Verteilung im Serum von Patienten mit verschiedenen Diagnosen vorkommen. Die Kenntnis der Häufigkeit von gemeinsamen Reaktionen der Antikörper gegen die hier untersuchten Muskelgewebe kann diagnostisch verwertet werden, zumal ein Serum simultan in einem Testansatz auf allen Muskelarten der entsprechenden Spezies untersucht werden kann.

II.5.b Die Ergebnisse wurden mit Hilfe des Vierfelder $\hat{\chi}^2$ - Tests ausgewertet, wenn die Voraussetzungen für diesen Test gegeben waren:

1. Anzahl der Versuche $n > 20$
2. die Erwartungshäufigkeit aller vier Felder $E > 2$

$\hat{\chi}^2$ wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\hat{\chi}^2 = \frac{\left[\,|(ad-bc)| - \frac{n}{2}\,\right]^2 n}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d}$$

wobei a,b,c und d die beobachteten Häufigkeiten in der Vierfeldertafel bedeuten.

		Antikörper gegen Präparat A: +	Antikörper gegen Präparat A: −	
Antikörper gegen Präparat B	+	a	c	a+c
	−	b	d	b+d
		a+b	c+d	n

Geprüft wurde die Hypothese H_o:
das Auftreten von Antikörpern gegen Präparat A und Antikörpern gegen Präparat B ist unabhängig voneinander. Die Alternativhypothese H_1 besagt, daß das Auftreten von Antikörpern gegen Präparat 1 und Antikörpern gegen Präparat 2 nicht unabhängig voneinander ist. Für die Untersuchung des Antikörpervorkommens gegen glatte Muskulatur der Ratte und Herzmuskel Mensch alt wurde einseitig getestet, da aus der Literatur (13,14,15) keine Verwandtschaft der Antigene dieser Gewebe bekannt ist. Alle anderen Tests wurden zweiseitig beurteilt. Es wurde auf dem

Signifikanzniveau = 0,01 geprüft. Die Nullhypothese wird beibehalten, wenn

$\hat{\chi}^2 < \chi_1; 0,01 = 6,635$ (zweiseitig) oder

$\hat{\chi}^2 < \chi_1; 0,01 = 5,412$ (einseitig) ist.

Hierbei läßt sich auf Grund der vorliegenden Stichproben mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Antikörpern gegen Präparat A und Antikörpern gegen Präparat B nicht sichern. Ist $\hat{\chi}^2 \geq \chi_1 ; 0,01 = 6,635$ (zweiseitig) bzw. $\hat{\chi}^2 \geq \chi_1 ; 0,01 = 5,412$ (einseitig) wird die Nullhypothese abgelehnt, d.h. mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% besteht zwischen dem Auftreten von Antikörpern gegen Präparat A und Antikörpern gegen Präparat B ein Zusammenhang.

II.5.c Der $\hat{\chi}^2$ - Test sagt nur etwas über die Existenz eines Zusammenhanges aus. Ein Maß für die Stärke dieses Zusammenhanges ist, wenn eine Kontingenz gesichert ist, der Kontingenzkoeffizient von Pearson:

$$CC = \sqrt{\frac{\hat{\chi}^2}{n + \hat{\chi}^2}}$$

Der maximale Kontingenzkoeffizient für die Vierfeldertafel beträgt CC = 0,7071.

II.5.d Bei schwach besetzten Vierfeldertafeln, d.h. $n < 20$ oder bei einer Erwartungshäufigkeit eines Feldes von $E \leq 2$ wurde mit dem exakten Test nach Fisher geprüft. Die einseitige bzw. zweiseitige Fragestellung wurde, wie beim $\hat{\chi}^2$ - Test erläutert, angewandt.

$$P = \frac{(a+b)!\,(c+d)!\,(a+c)!\,(b+d)!}{n!} \sum \frac{1}{a_i!\,b_i!\,c_i!\,d_i!}$$

P ist die Wahrscheinlichkeit dafür, daß die beobachtete Besetzung der Vierfeldertafel oder eine noch unwahrscheinlichere Besetzung rein zufällig zustande kommt. Ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Antikörpern gegen Präparat A und Antikörpern gegen Präparat B wird als gesichert angenommen, wenn P 0,01 ist.

III.1.a Vergleichende Gewebsuntersuchungen: Lebererkrankungen

Die Tabellen 1-5 geben Auskunft über die Untersuchungen, die bei Patienten mit Hepatopathien durchgeführt worden sind. In der Tabelle 1 werden alle getesteten Ergebnisse mit glatter Muskulatur in Beziehung gesetzt. Bei keinem Gewebe konnte ein statistischer Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Antikörpern gesichert werden. Während die verschiedenen Rattengewebe nahezu gleichhäufig positiv reagierten, wurde beim Vergleich des glatten Muskels der Ratte mit frischem menschlichen Herzmuskel und menschlicher Skelettmuskulatur ein vermehrtes Antikörpervorkommen beim Rattenmuskel festgestellt.

Tabelle 1

	gl. Muskul. Ratte +	gl. Muskul. Ratte −		H		gl. Muskul. Ratte +	gl. Muskul. Ratte −		H
Herzmusk. Ratte +	15	6	$\hat{\chi}^2$ 2,989	0	Herzmusk. Mensch F+	9	2	$\hat{\chi}^2$ 2,997	0
Herzmusk. Ratte −	6	10			Herzmusk. Mensch F−	5	8		
Skelettm. Ratte +	16	6	$\hat{\chi}^2$ 1,586	0	Skelettm. Mensch +	5	2	P 0,647	0
Skelettm. Ratte −	7	8			Skelettm. Mensch −	8	7		

Herzmusk Mensch A+	5	0	P 0,233	0
Herzmusk. Mensch A−	9	4		

Antikörper gegen Skelettmuskulatur der Ratte werden in der Tabelle 2 mit den anderen untersuchten Geweben verglichen. Ein sehr hohes Maß von Übereinstimmungen konnte zwischen Skelettmuskulatur und Herzmuskulatur der Ratte gefunden werden, wobei der Herzmuskel etwas empfindlicher mit dem vorliegenden Antikörper zu reagieren scheint. Ein Zusammenhang konnte auch beim Skelettmuskel des Menschen gefunden werden. Es zeigte sich, daß beim menschlichen Skelettmuskel nur dann eine positive Immunfluoreszenzreaktion festzustellen war, wenn auch der Rattenmuskel eine Reaktion zeigte. Darüberhinaus war der menschliche Muskel bei keinem Testansatz positiv. Die beiden restlichen Gewebe ließen keine Aussage zu.

Tabelle 2

	Skelettm. Ratte +	Skelettm. Ratte −	$\hat{\chi}^2$	H		Skelettm. Ratte +	Skelettm. Ratte −	$\hat{\chi}^2$	H
Herzmusk. Ratte +	15	5	$\hat{\chi}^2$ 12,35	1	Skelettm. Mensch +	6	0	$\hat{\chi}^2$ 8,792	1
Herzmusk. Ratte −	2	15			Skelettm. Mensch −	3	13		
Herzmusk. Mensch F+	5	4	$\hat{\chi}^2$ 0,520	0	Herzmusk. Mensch A+	4	2	P 0,619	0
Herzmusk. Mensch F−	4	9			Herzmusk. Mensch A−	5	7		

Die Gegenüberstellung von Herzmuskulatur der Ratte mit menschlichem Skelettmuskel und menschlichem Herzmuskel A ließ keine Zusammenhänge erkennen. Immunfluoreszenzreaktionen jedoch waren

beim Rattengewebe erheblich häufiger.

Tabelle 3

	Herzmusk. Ratte +	Herzmusk. Ratte −		H
Skelettm. Mensch +	5	1	$\hat{\chi}^2$ 3,9663	0
Skelettm. Mensch −	4	12		
Herzmusk. Mensch A +	4	2	P 0,619	0
Herzmusk. Mensch A −	5	7		

Der menschliche Herzmuskel F wird in der Tabelle 4 mit drei Gewebearten verglichen. Einer gleich großen Häufigkeit von Antikörpern gegen Herzmuskel der Ratte steht eine geringere von Antikörpern gegen menschlichen Skelettmuskel und gealtertem Herzmuskelgewebe A gegenüber. Hier zeigt sich, daß der gealterte menschliche Herzmuskel A zum Antikörper-Nachweis weniger geeignet ist als frischer Herzmuskel.

Tabelle 4

	Herzmusk. Mensch F +	Herzmusk. Mensch F −		H		Herzmusk. Mensch F +	Herzmusk. Mensch F −		H
Herzmusk. Ratte +	6	3	$\hat{\chi}^2$ 2,5714	0	Herzmusk. Mensch A +	6	0	P 0,0128	0
Herzmusk. Ratte −	3	10			Herzmusk. Mensch A −	4	8		
Skelettm. Mensch +	5	1	$\hat{\chi}^2$ 3,966	0					
Skelettm Mensch −	4	12							

Beim Vergleich des menschlichen Skelettmuskels mit dem Herzmuskel A des Menschen war statistisch kein Zusammenhang festzustellen. Beide Gewebe reagierten mit unterschiedlichen Seren nahezu gleichhäufig positiv.

Tabelle 5

	Skelettm. Mensch +	Skelettm. Mensch −		H
Herzmusk. Mensch A+	3	3	P 0,626	0
Herzmusk. Mensch A−	4	8		

III.1.b Ergebnisse: Postmyokardiotomie-Syndrom

Durch herzchirurgische Eingriffe gelangen Antigene des Herzmuskels in den Kreislauf. Es besteht die Möglichkeit, daß hierdurch die Bildung zirkulierender Antikörper gegen die Herzantigene veranlaßt wird. 4-20 Tage nach der Operation kann es zu klinischen Erscheinungen in Form von Temperaturanstieg, retrosternalen Schmerzen, perikardialem Reiben und Gelenkbeschwerden kommen. Labortechnisch bestehen Senkungsbeschleunigung, Leukocytose und positive CRP-Reaktion. Die für dieses Postmyokardiotomie-Syndrom (PMS) verantwortlichen Antikörper sind gegen das Sarkolemm des Herzmuskels gerichtet und unterscheiden sich fluoreszenzoptisch im Fluoreszenzmuster nicht von Herzantikörpern bei anderen kardialen Erkrankungen.

Es wurden 36 Seren von Patienten 10-30 Tage nach herzchirurgischen Eingriffen auf das Vorkommen von Antikörpern gegen Herzmuskel, Skelettmuskel und glattem Muskel des Menschen und der Ratte untersucht (vgl. II.4). In den folgenden Tabellen 6-9 sind die Ergebnisse einander gegenübergestellt.

Auffällig ist, (Tab. 6) daß alle auf Herzmuskel der Ratte nachweisbaren Antikörper auch auf der Skelettmuskulatur der Ratte oder des Menschen nachweisbar sind.

Ebenso reagieren auch alle auf frischem menschlichen Herzmuskel positiv ablesbaren Seren auf menschlichen Skelettmuskel. Doch sind stets noch zusätzliche Seren auf Skelettmuskel positiv. Stärker ausgeprägt sind unterschiedliche Reaktionen auf Geweben der Ratte und des Menschen. Nach diesen Ergebnissen läßt sich eher zum Nachweis der Antikörper die Herzmuskulatur durch Skelettmuskulatur derselben Spezies ersetzen sie durch Herzmuskulatur der anderen Spezies.

Tabelle 6

	Herzmusk. Ratte +	Herzmusk. Ratte −		H		Herzmusk. Ratte +	Herzmusk. Ratte −		H
Gl. Musk Ratte +	6	5	$\hat{\chi}^2$ 0,0399	0	Herzmusk. Mensch F+	6	5	$\hat{\chi}^2$ 0,039	0
Gl. Musk. Ratte −	5	7			Herzmusk. Mensch F−	5	7		
Skelettm Ratte +	23	6	$\hat{\chi}^2$ 12,128	1	Skelettm. Mensch +	10	8	$\hat{\chi}^2$ 2,913	0
Skelettm Ratte −	0	7			Skelettm. Mensch −	0	5		

Tabelle 7

	Herzmusk. Mensch F +	Herzmusk. Mensch F −		H		Herzmusk. Mensch F +	Herzmusk. Mensch F −		H
Gl. Musk Ratte +	5	7	$\hat{\chi}^2$ 0,028	0	Skelettm. Mensch +	10	8	$\hat{\chi}^2$ 2,913	0
Gl. Musk. Ratte −	4	7			Skelettm. Mensch −	0	5		
Skelettm. Ratte +	7	10	$\hat{\chi}^2$ 0,359	0	Herzmusk. Mensch A+	0	2	P 0,472	0
Skelettm. Ratte −	4	2			Herzmusk. Mensch A−	6	6		

Bei vorher diskutierten vergleichenden Untersuchungen von Geweben mit Antikörperreaktionen bei menschlichem Herzmuskel A hat es sich gezeigt, daß bei dieser Gewebeart kaum positive Ergebnisse zu beobachten sind. Diese Tendenz bestätigt sich in Tabelle 8. Nicht mehr ganz frisches Herzmuskelgewebe ist daher zum Antikörper-Nachweis beim PMS nicht geeignet.

Tabelle 8

	Herzmusk. Mensch A +	Herzmusk. Mensch A −	P	H		Herzmusk. Mensch A +	Herzmusk. Mensch A −	P	H
gl. Musk. Ratte +	2	8	P 0,494	0	Skelettm. Ratte +	2	7	P 0,505	0
gl. Musk. Ratte −	0	4			Skelettm. Ratte −	0	5		
Herzmusk Ratte +	0	6	P 0,473	0	Skelettm Mensch +	0	6	P 0,473	0
Herzmusk Ratte −	2	6			Skelettm Mensch −	2	6		

Nach Tabelle 9 sind auf Rattenskelettmuskel häufiger Antikörper nachweisbar als auf menschlichem Skelettmuskel.

Tabelle 9

	gl. Muskul. Ratte +	gl. Muskul. Ratte −	$\hat{\chi}^2$	H		Skelettm. Mensch +	Skelettm. Mensch −	$\hat{\chi}^2$	H
Skelettm. Mensch +	11	6	0,728	0	Skelettm. Ratte +	11	7	0,110	0
Skelettm. Mensch −	2	4			Skelettm. Ratte −	2	3		
Skelettm. Ratte +	8	8	0,246	0					
Skelettm. Ratte −	5	2							

III. 1.c Ergebnisse: Herzinfarkt

Beim Herzinfarkt kommt es zum Untergang von Herzmuskelgewebe. Es wurde beobachtet, daß es im Anschluß daran, ähnlich wie beim Postmyokardiotomiesyndrom, bei einigen Patienten zur Bildung zirkulierender Antikörper kommt, ohne daß klinische Erscheinungen auftreten.
Es wurden Seren von Patienten 8-28 Tage nach Herzinfarkt untersucht.

In den Tabellen 10-12 sind die Vorkommen von Antikörpern gegen die verschiedenen Muskelarten einander gegenübergestellt. Nur wenige Seren enthalten Antikörper. Gegen Gewebe derselben Spezies, speziell gegen Herzmuskel und Skelettmuskel kommen am häufigsten gemeinsam Antikörper vor.

Tabelle 10

	Herzmusk. Ratte +	Herzmusk. Ratte −		H		Herzmusk. Ratte +	Herzmusk. Ratte −		H
gl. Muskul. Ratte +	0	4	P 0,588	0	Herzmusk. Mensch F+	3	3	χ^2 1,518	0
gl. Muskul Ratte −	4	18			Herzmusk. Mensch F−	3	17		
Skelettm Ratte +	4	1		1	Skelettm Mensch +	0	4		0
Skelettm Ratte −	1	20	P 0,002		Skelettm. Mensch −	2	20	P 0,112	

Tabelle 11

	Herzmusk Mensch F +	Herzmusk Mensch F −		H		Herzmusk. Mensch F +	Herzmusk. Mensch F −		H
gl. Muskul Ratte +	2	3		0	Skelettm Mensch +	4	0		1
gl. Muskul Ratte −	4	17	P 0,558		Skelettm Mensch −	2	20	P 0,001	
Skelettm Ratte +	0	4		0	Herzmusk. Mensch A +				
Skelettm Ratte −	4	18	P 1,00		Herzmusk Mensch A −				

Tabelle 12

	gl. Muskul. Ratte +	gl. Muskul. Ratte −		H		Skelettm. Mensch +	Skelettm. Mensch −		H
Skelettm Mensch +	2	3		0	Skelettm. Ratte +	0	4		0
Skelettm. Mensch −	3	18	P 0,236		Skelettm Ratte −	4	18	P 0,588	
Skelettm Ratte +	2	3		0					
Skelettm. Ratte −	3	18	P 0,236						

III. 1.d Ergebnisse: Myokarditis

Die größte Zahl der Einzeluntersuchungen wurde mit Seren durchgeführt, die von den Patienten entnommen worden waren, bei denen Hinweise auf eine vorliegende Myokarditis bestanden. Wie bei allen entzündlichen Erkrankungen traten auch hier immunfluoreszenz-optische Erscheinungen auf, die auf ein Antikörpervorkommen schließen lassen. Die empfindlichsten Reaktionen zeigte der glatte Muskel der Ratte. Darüberhinaus konnte gleichzeitiges Vorkommen der Antikörper gegen die Muskelgewebe der gleichen Spezies gehäuft beobachtet werden.

Tabelle 13

	Herzmusk Ratte +	Herzmusk Ratte −		H		Herzmusk Ratte +	Herzmusk Ratte −		H
gl. Muskul. Ratte +	12	6	$\hat{\chi}^2$ 20,199	1	Herzmusk. Mensch F+	3	3	$\hat{\chi}^2$ 2,198	0
gl. Muskul. Ratte −	4	42			Herzmusk. Mensch F−	7	39		
Skelettm Ratte +	7	6	$\hat{\chi}^2$ 10,565	1	Skelettm. Mensch +	6	7	$\hat{\chi}^2$ 7,569	1
Skelettm. Ratte −	3	36			Skelettm. Mensch −	3	36		

Tabelle 14

	Herzmusk. Mensch F +	Herzmusk. Mensch F −		H		Herzmusk Mensch F +	Herzmusk Mensch F −		H
gl. Muskul Ratte +	2	11		0	Skelettm Mensch +	6	9		1
gl. Muskul Ratte −	3	36	P 0,588		Skelettm. Mensch −	1	36	P 0,001	
Skelettm. Ratte +	3	10		0	Herzmusk Mensch A +	0	0		
Skelettm Ratte −	3	36	P 0,317		Herzmusk Mensch A −	1	38		

Tabelle 15

	Herzmusk Mensch A +	Herzmusk Mensch A −		H		Herzmusk. Mensch A +	Herzmusk. Mensch A −		H
gl. Muskul. Ratte +	0	10			Herzmusk Ratte +	0	7		
gl. Muskul Ratte −	0	29			Herzmusk. Ratte −	0	32		
Skelettm Ratte +	0	7			Skelettm Mensch +	0	10		
Skelettm Ratte −	0	32			Skelettm. Mensch −	0	29		

Tabelle 16

	gl. Muskul. Ratte +	gl. Muskul. Ratte −		H		Skelettm Mensch +	Skelettm Mensch −		H
Skelettm. Mensch +	7	6	χ^2 3,275	0	Skelettm. Ratte +	11	3	χ^2 22,506	1
Skelettm. Mensch −	10	34			Skelettm. Ratte −	3	35		
Skelettm. Ratte +	8	7	χ^2 10,517	1					
Skelettm. Ratte −	3	34							

III. 2 Vergleichende Untersuchungen auf Antikörper an verschiedenen Geweben ohne Berücksichtigung des Krankheitsbildes

Außer den Seren von Patienten mit Lebererkrankungen, Postmyokardiotomie-Syndrom, Herzinfarkt und Myokarditisverdacht wurden 70 Seren, die routinemäßig zur Untersuchung der Rheumaserologie (II.3.5) eingesandt worden waren, auf die verschiedenen Antikörper untersucht. Diese Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen 17-21 unter der Rubrik Kollektiv 1 aufgeführt. Es wird die zahlenmäßige Verteilung der Antikörper untereinander verglichen.

Unter der Rubrik Kollektiv 2 sind in den Tabellen 17-21 die Gesamtzahlen aller Untersuchungen, einschließlich der in III.1 beschriebenen, unabhängig von den verschiedenen Erkrankungen aufgeführt.

In der Tabelle 17 wurde für beide Kollektive die Herzmuskulatur der Ratte als Bezugsgewebe gewählt.

Zusammenhänge lassen sich im Kollektiv 1 bei allen Geweben mit Ausnahme der menschlichen Skelettmuskulatur und dem menschlichen Herzmuskel A statistisch sichern. Am stärksten ist die Übereinstimmung zwischen Herzmuskulatur und Skelettmuskulatur der Ratte, was in Übereinstimmung mit den vorhergehenden Untersuchungen steht. Recht häufige übereinstimmend positive Resultate zeigen sich auch zwischen Herzmuskulatur und glatter Muskulatur der Ratte. Hierbei konnte aber ein häufigeres Vorkommen von Antikörpern gegen Herzmuskel festgestellt werden.

Ein sehr hohes Maß an Übereinstimmungen erbrachte der menschliche Skelettmuskel und der Herzmuskel der Ratte.

Die Ergebnisse der Kollektive 1+2 laufen zueinander parallel.

Tabelle 17

	Kollektiv 1 Herzmusk. Ratte +	−		H	Kollektiv 2 Herzmusk. Ratte +	−		H
gl. Muskul. Ratte +	19	5	$\hat{\chi}^2$ 10,716	1	52	26	35,144	1
gl. Muskul. Ratte −	16	30			35	107		
Skelettm. Ratte +	27	8	$\hat{\chi}^2$ 12,411	1	76	23	80,906	1
Skelettm. Ratte −	7	18			16	96		
Herzmusk Mensch F+	2	3	$\hat{\chi}^2$ 6,637	1	30	17	$\hat{\chi}^2$ 23,147	1
Herzmusk. Mensch F−	9	18			27	91		
Skelettm. Mensch +	9	6	$\hat{\chi}^2$ 0,171	0	30	26	$\hat{\chi}^2$ 15,326	1
Skelettm. Mensch −	13	14			24	85		
Herzmusk Mensch A+	0	8		0	4	12	$\hat{\chi}^2$ 0,149	0
Herzmusk. Mensch A−	7	4	P 0,012		25	49		

Tabelle 18

	Kollektiv 1 gl. Musk. R. +	−		H	Kollektiv 2 gl. Muskul. R. +	−		H
Skelettm. Ratte +	17	28	$\hat{\chi}^2$ 0,012	0	51	52	$\hat{\chi}^2$	1
Skelettm. Ratte −	9	16			27	78		
Herzmuskel Mensch F +	11	7	$\hat{\chi}^2$ 0,875	0	29	20	$\hat{\chi}^2$ 10,799	1
Herzmuskel Mensch F −	10	14			36	82		
Skelettm. Mensch +	16	11	$\hat{\chi}^2$ 1,960	0	41	28	$\hat{\chi}^2$ 15,839	1
Skelettm. Mensch −	6	12			29	75		
Herzmuskul. Mensch A +	5	0	P 0,071	0	12	0	$\hat{\chi}^2$ 11,481	1
Herzmuskul. Mensch −	3	4			30	41		

In der Tabelle 18 werden die untersuchten Ergebnisse, sofern sie nicht schon vorher diskutiert worden sind, mit der glatten Muskulatur der Ratte verglichen. Im gesamten Kollektiv 1 lassen sich keine Zusammenhänge zu den anderen Muskelgeweben sichern. Die Skelettmuskulatur der Ratte und die menschliche Skelettmuskulatur zeigten häufiger positive fluoreszenz-optische Resultate als der glatte Muskel der Ratte.
Antikörper gegen menschlichen Herzmuskel F kamen seltener vor als Antikörper gegen glatten Muskel der Ratte.
Der menschliche Herzmuskel F, der in der Tabelle 19 den restlichen Geweben gegenübergestellt wird, zeigte im Kollektiv 1 keine Übereinstimmungen. Die Antikörper gegen die Skelettmuskulatur der beiden Spezies zeigten häufiger Immunfluoreszenzreaktionen als der menschliche Herzmuskel. Bedeutende Differenzen bestehen zwischen dem Antikörpernachweis auf frischem und altem menschlichen Herzmuskel.
Im Kollektiv 2 existiert ein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Antikörpern gegen humane Herz- und Skelettmuskulatur.

Tabelle 19

	Kollektiv 1 Herzmusk.MF +	−		H	Kollektiv 2 Herzmusk.MF +	−		H
Skelettm. Ratte +	11	10	$\hat{\chi}^2$ 0,384	0	26	38	$\hat{\chi}^2$ 5,156	0
Skelettm. Ratte −	8	13			23	78		
Skelettm. Mensch +	13	14	$\hat{\chi}^2$ 2,979	0	36	32	$\hat{\chi}^2$ 34,954	1
Skelettm Mensch −	3	14			10	89		
Herzmuskel Mensch A +	4	4	P 1,000	0	10	6	$\hat{\chi}^2$ 3,861	0
Herzmuskel Mensch A −	7	4			24	50		

Im Kollektiv 1 der Tabelle 20 ergaben sich statistisch keine Zusammenhänge.

Im Kollektiv 2 kommen Antikörper gegen Ratten-Skelettmuskel und menschlichem quergestreiften Muskel gehäuft gemeinsam vor, wobei der Rattenmuskel etwas häufiger positive Immunfluoreszenzreaktionen zeigte.

Tabelle 20

	Kollektiv 1 Skelettm. R. +	−		H	Kollektiv 2 Skelettm. R. +	−		H
Skelettm. Mensch +	13	11	$\hat{\chi}^2$ 0,447	0	41	20	$\hat{\chi}^2$ 29,549	1
Skelettm. Mensch −	7	11			24	80		
Herzmuskel Mensch A +	7	4	P 1,000	0	13	26	$\hat{\chi}^2$ 0,182	0
Herzmuskel Mensch A	5	3			28	43		

Tabelle 21

	Kollektiv 1 Skelettm. M. +	−		H	Kollektiv 2 Skelettm. M. +	−		H
Herzmuskel Mensch A +	4	4	P 1,000	0	7	9	$\hat{\chi}^2$ 0,067	0
Herzmuskel Mensch A −	5	3			27	47		

Die in der Tabelle 21 untersuchten Antikörper stehen in keiner positiven Relation zueinander.

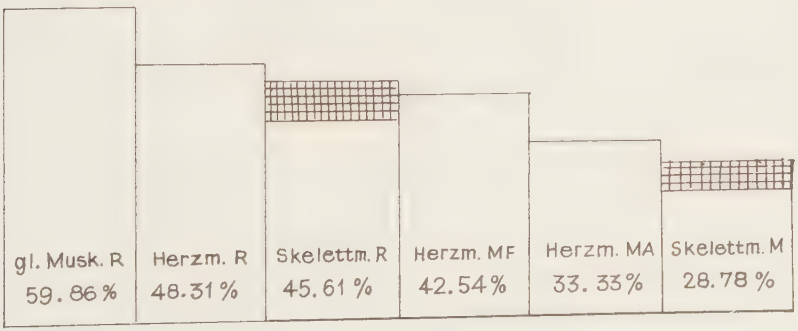
III. 3 Zusammenfassende Darstellung der Einzelergebnisse

Nach Auswertung aller Ergebnisse läßt sich das Antikörpervorkommen bei den einzelnen Geweben und Krankheitsbildern zusammengefaßt schematisch darstellen. (Abb. 1-6) Hierbei wurden alle positiven Resultate einer Gewebeart addiert, nach abnehmender Häufigkeit des Auftretens geordnet und außerdem mit den Werten in Beziehung gesetzt, die sich bei den vergleichenden Untersuchungen mit Normalseren ergeben hatten (III.4.b): Skelettmuskulatur der Ratte 7,14%, menschlicher Skelettmuskel 4,84%.

Alle anderen Gewebe zeigten bei Normalseren keine positiven immunfluoreszenz-optischen Erscheinungen. Die grafische Darstellung der Normalseren in den Tabellen erfolgt durch Schraffierung innerhalb der Felder. In der Abb. 1 ist zu erkennen, daß bei Patienten mit Lebererkrankungen der glatte Muskel der Ratte am häufigsten positiv reagiert. Mit größerem Abstand folgen Herzmuskulatur und Skelettmuskulatur der Ratte und menschlicher Herzmuskel F. Innerhalb dieser Gruppe besteht ein Unterschied von etwa 3%. Den letzten Block mit dem geringsten Antikörpervorkommen innerhalb dieses Krankheitsbildes bilden menschlicher Herzmuskel A und menschlicher Skelettmuskel. Die Reihenfolge der Ergebnisse ändert sich aber, wenn man beim Skelettmuskel der Ratte die 7,14% der Seren berücksichtigt, die schon bei Normalpersonen gefunden wurden.

Abb. 1

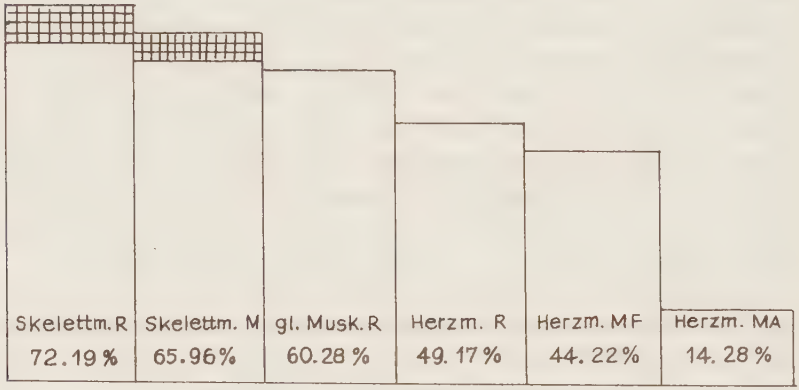
Durchschnittliches Antikörpervorkommen der verschiedenen Gewebe bei Lebererkrankungen



Wenn man die absoluten Zahlen beim Auftreten von Antikörpern betrachtet, zeigen sich beim Postmyokardiotomie-Syndrom die häufigsten positiven Ergebnisse im Vergleich zu allen anderen Kollektiven.
Am häufigsten wurden Antikörper nicht etwa gegen Herzgewebe gefunden, sondern gegen quergestreiften Muskel.
Nicht mehr ganz frischer Muskel ist zum Antikörpernachweis besonders schlecht geeignet.

Abb. 2

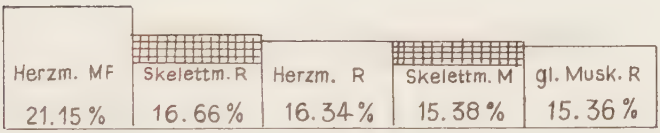
Durchschnittliches Antikörpervorkommen der verschiedenen Gewebe beim Postmyokardiotomiesyndrom



Das geringste quantitative Antikörper-Vorkommen war bei Untersuchungen mit den Seren zu beobachten, die von Patienten nach einem Herzinfarkt stammten. Die grafische Darstellung zeigt außerdem den geringen zahlenmäßigen Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen. Im Gegensatz zum Postmyokardiotomie-Syndrom sind Antikörper gegen Herzmuskel häufiger als gegen quergestreiften Muskel. Auf die Untersuchung der Antikörper gegen Herzmuskel A wurde verzichtet.

Abb. 3

Durchschnittliches Antikörpervorkommen gegen verschiedene Gewebe bei Zustand nach Herzinfarkt

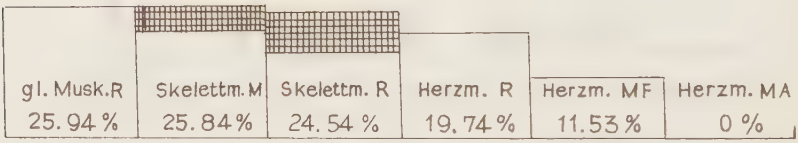


In der Abb. 4 sind diejenigen Gewebsuntersuchungen nach abnehmender Häufigkeit des Antikörpervorkommens zusammengestellt, die mit myokarditisverdächtigen Patientenseren durchgeführt worden sind. Das relativ häufige Vorkommen der Antikörper gegen glatte Muskulatur kann mit dem Vorkommen dieser unspezifischen Antikörper bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen erklärt werden.

Insgesamt fällt das insgesamt relativ geringe Auftreten von Antikörpern bei Patienten mit Verdacht auf Myokarditis auf.

Abb. 4

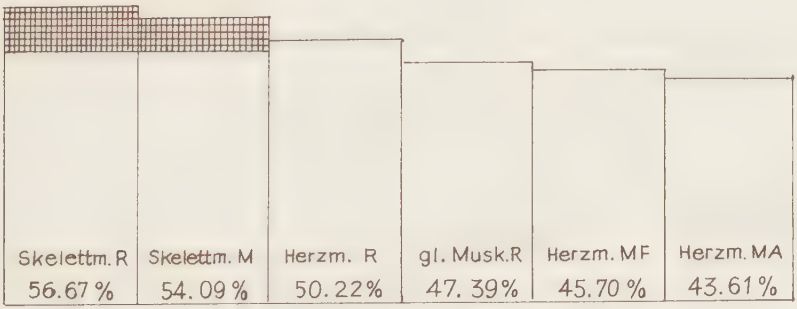
Durchschnittliches Antikörpervorkommen der verschiedenen Gewebe bei Myokarditisverdacht.



Recht häufige Antikörper-Reaktionen waren im Kollektiv 1 zu beobachten. Zwischen allen Geweben ergibt sich ein geringer Häufigkeitsunterschied, der bei absoluter Wertung der durchgeführten Ergebnisse um 2% beträgt. Berücksichtigt man die Untersuchungen der Normalseren, gleichen sich die Zahlen zwischen den Skelettmuskelgeweben der beiden Spezies und dem Herzmuskelgewebe der Ratte an.

Abb. 5

Durchschnittliches Antikörpervorkommen der verschiedenen Gewebe im Kollektiv 1

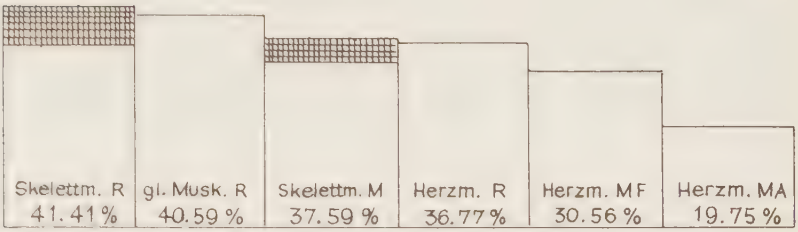


Alle durchgeführten Versuche wurden im Kollektiv 2 zusammengefaßt. Die Tendenz der Einzelgruppen, daß nur geringe Differenzen zwischen der glatten Muskulatur, Skelett- und Herzgewebe der Ratte und dem menschlichen Skelettmuskel bestehen, wird hier bestätigt. Der menschliche Herzmuskel F, der weniger häufig Antikörper-Reaktionen erbrachte, zeigte nur beim Herzinfarkt überdurchschnittlich häufige positive fluoreszenz-optische Resultate.

Bei der weitaus überwiegenden Zahl der Testungen konnten beim menschlichen Herzmuskel A keine positiven Ergebnisse festgestellt werden. Bei den Seren von Patienten mit Herzinfarkt wurde auf die Durchführung der Versuche mit diesem Gewebe verzichtet.

Abb. 6

Durchschnittliches Antikorpervorkommen der verschiedenen Gewebe im Kollektiv 2



Um Aussagen über das Bestehen von Zusammenhängen machen zu können, werden die ^{2} - Werte der einzelnen Vierfeldertafeln aufgeführt; bei ^{2} - Werten, die größer als 6,635 bzw. 5,412 waren, läßt sich ein Zusammenhang mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% sichern. Im Rahmen der zusammenfassenden Darstellung der Einzelergebnisse sind die positiven Resultate mit Hilfe des Kontingenzkoeffizienten CC (maximal-CC = 0,7071) weiter aufgeschlüsselt in den Tabellen 22-27 zusammengestellt worden.

Dabei zeigt sich in Tabelle 22, daß der Skelettmuskel der Ratte und der Skelettmuskel des Menschen das größte Maß an Übereinstimmung bei den Lebererkrankungen erbrachten. Mit geringem Abstand folgt der Herzmuskel und Skelettmuskel der Ratte.

Tabelle 22

Lebererkrankungen			Gewebe-Spezies Vergleich
SM / SR	$\hat{\chi}^2 = 8.792$	CC = 0.534	X
HR / SR	$\hat{\chi}^2 = 12.358$	CC = 0.500	O
HMA / HMF	P = 0.012		
SM / HR	P = 0.023		
SM / HM	$\hat{\chi}^2 = 3.966$		
GMR / HMF	$\hat{\chi}^2 = 2.997$		
HR / GMR	$\hat{\chi}^2 = 2.989$		
HR / HMF	$\hat{\chi}^2 = 2.571$		
GMR / SR	$\hat{\chi}^2 = 1.586$		
GMR / SM	P = 0.647		
HMA / GMR	P = 0.233		
HMA / HR	P = 0.619		
HMA / SR	P = 0.619		
HMF / SR	$\hat{\chi}^2 = 0.520$		
HMA / SM	P = 0.626		

Beim Postmyokardiotomie-Syndrom erreichten der Herzmuskel und Skelettmuskel der Ratte den kritischen Wert (Tab. 23), menschlicher Skelettmuskel, menschlicher Herzmuskel F und Herz- und Skelettmuskulatur der Ratte bei den Untersuchungen bei Seren von Herzinfarktpatienten (Tab. 24).

Tabelle 23

PMS			Gewebe-Spezies Vergleich
HR / SR	$\hat{\chi}^2$ = 12.128	CC = 0.501	0
HR / SM	$\hat{\chi}^2$ = 2.913		
HMF / SM	$\hat{\chi}^2$ = 2.913		
HR / GMR	$\hat{\chi}^2$ = 0.381		
HMF / SKR	$\hat{\chi}^2$ = 0.359		
GMR / SM	P = 0.728		
GMR / SR	$\hat{\chi}^2$ = 0.246		
HMA / SM	P = 0.473		
HMA / HR	P = 0.473		
HMA / HMF	P = 0.472		
SM / SR	P = 0.366		
HMA / SR	P = 0.506		
HR / HMF	$\hat{\chi}^2$ = 0.039		
HMF / GMR	$\hat{\chi}^2$ = 0.028		
HMA / GMR	P = 0.494		

Tabelle 24

Herzinfarkt			Gewebe-Spezies Vergleich
SKM / HMF	P = 0.001	CC = 0.546	0
SKR / HR	P = 0.002	CC = 0.532	0
HMF / HR	χ^2 = 1.518		
GMR / SR	χ^2 = 0.462		
GMR / SKM	χ^2 = 0.462		
GMR / HMF	P = 0.558		
GMR / HR	P = 0.588		
SKR / SKM	P = 0.588		
SKR / HMF	P = 1.000		
SKM / HR	P = 0.112		

Bei der Myokarditis (Tab. 25) weisen die Antikörper gegen Skelettmuskelgewebe der beiden Spezies das höchste Maß an Übereinstimmung auf.
Darüberhinaus zeigte sich auch, daß der glatte Muskel und der Skelettmuskel der Ratte und der menschliche Skelettmuskel und der Herzmuskel der Ratte den kritischen Werten genügte.

Tabelle 25

Myokarditis			Gewebe-Spezies Vergleich
SM / SR	$\hat{\chi}^2$ = 22.506	CC = 0.549	X
HR / GMR	$\hat{\chi}^2$ = 20.199	CC = 0.489	0
HR / SR	$\hat{\chi}^2$ = 10.565	CC = 0.410	0
GMR / SR	$\hat{\chi}^2$ = 10.517	CC = 0.410	0
HMF / SM	P = 0.001	CC = 0.397	0
HR / SM	$\hat{\chi}^2$ = 7.569	CC = 0.356	
GMR / SM	$\hat{\chi}^2$ = 3.275		
HR / HMF	$\hat{\chi}^2$ = 2.198		
HMF / SR	P = 0.317		
HMF / GMR	P = 0.588		

Die Zusammenfassung der CC-Werte des Kollektives 1 und des Kollektives 2 sind in den Tabellen 26 und 27 aufgezeichnet.

Tabelle 26

Kollektiv 1			Gewebe-Spezies Vergleich
HR / SR	$\hat{\chi}^2$ = 12.4111	CC = 0.4138	O
HR / HMF	$\hat{\chi}^2$ = 6.6370	CC = 0.3693	X
GMR / HR	$\hat{\chi}^2$ = 10.756	CC = 0.3643	O
HMA / HR		P = 0.012	
HMA / GMR		P = 0.071	
SM / HMA	P = 1.000		
HMF / SM	$\hat{\chi}^2$ = 2.9794		
GMA / SM	$\hat{\chi}^2$ = 1.9602		
HMF / GMR	$\hat{\chi}^2$ = 0.8750		
HMR / SR	$\hat{\chi}^2$ = 0.4474		
HMR / SR	$\hat{\chi}^2$ = 0.3844		
HMA / SR	P = 1.000		
HMA / HF	P = 1.000		
HR / SM	$\hat{\chi}^2$ = 0.1718		
GMR / SR	$\hat{\chi}^2$ = 0.0122		

Tabelle 27

Kollektiv 2			Gewebe-Spezies Vergleich
HR / SKR	$\hat{\chi}^2$ = 80.9062	CC = 0.5264	O
HMF/ SM	$\hat{\chi}^2$ = 34.9543	CC = 0.4159	O
SM / SR	$\hat{\chi}^2$ = 29.5493	CC = 0.3896	X
HR / GMR	$\hat{\chi}^2$ = 35.4442	CC = 0.3724	O
HMF/ HR	$\hat{\chi}^2$ = 23.1472	CC = 0.3507	X
HMA/ GMR	$\hat{\chi}^2$ = 11.4814	CC = 0.3485	
HR / SM	$\hat{\chi}^2$ = 15.3264	CC = 0.2913	
GMR/ SM	$\hat{\chi}^2$ = 15.8397	CC = 0.2894	
HF / GMR	$\hat{\chi}^2$ = 10.7997	CC = 0.2463	
GMA/ SR	$\hat{\chi}^2$ = 11.5716	CC = 0.2295	O
HF / SR	$\hat{\chi}^2$ = 5.1560		
HF / HMA	$\hat{\chi}^2$ = 3.8614		
HMA/ SR	$\hat{\chi}^2$ = 0.1825		
HR / HMA	$\hat{\chi}^2$ = 0.1496		
HMA/ SM	$\hat{\chi}^2$ = 0.0671		

Innerhalb dieser Tabellen sind gehäuft miteinander vorkommende Antikörper von Geweben der gleichen Spezies mit einem o, gleiche Gewebe verschiedener Spezies mit einem x versehen. Das häufigste gemeinsame Vorkommen weisen Antikörper gegen verschiedene Gewebe der gleichen Spezies auf.
Die Gewebearten der gleichen Spezies reagierten bei 24 positiven Versuchen in 14 Fällen untereinander, die gleichen Gewebearten in 6 Fällen, und nur bei 4 positiven Ergebnissen ergaben sich Kreuzreaktionen.

III. 4.a Normalseren

Um eine Aussage darüber machen zu können, ob es sich bei den beobachteten Immunfluoreszenzen tatsächlich um pathologische Phänomene handelt, wurden zum Vergleich insgesamt 62 Seren von Normalpersonen auf den Geweben, die auch bei den anderen Untersuchungen benutzt worden waren, getestet. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengefaßt:

Tabelle 28

	n	Anzahl positiv Versuche	% positiv
Skelettmusk. Ratte	56	4	7.14 %
Herzmuskulatur Ratte	56	0	0%
glatte Muskul. Ratte	36	0	0 %
Herzmuskulatur Mensch F	47	0	0 %
Skelettmuskul. Mensch	62	3	4.84 %
Herzmuskulatur Mensch A	36	0	0 %

Im Einzelnen wurden 56 Seren auf Skelettmuskulatur der Ratte untersucht. Hiervon zeigten 4 Gewebe eine positive Reaktion (7,14%). Sowohl beim Herzgewebe (n=56) und der glatten Muskulatur der Ratte (n=36), dem menschlichen Herzgewebe (Pathologie) (n=36) ergaben sich keine positiven Befunde. Beim menschlichen Skelettgewebe (n=62) entsprachen 3 positive Befunde einem Ergebnis von 4,84%. Diese Werte, die in einem Bereich von 0-7% liegen, zeigen eine Übereinstimmung mit Untersuchungen, die von Kaplan et al. (13) durchgeführt worden sind. Hier lagen die Ergebnisse über das Vorkommen von Antikörpern bei Normalpersonen zwischen 0 und 4%.

III.4.b CRP - Teste

Parallel zu einigen Untersuchungen wurden zur Kontrolle eines eventuell vorhandenen C-reaktiven Proteins CRP-Teste durchgeführt. Es wurden 15 Patientenseren auf der glatten Muskulatur der Ratte, 26 Seren auf dem Skelettmuskel und ebenfalls 26 Seren auf dem Herzmuskel der Ratte getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 29 zusammengefaßt.

Tabelle 29

CRP: 0	0	+	CRP: +	0	+
GMA Ratte	7	4	GMA Ratte	4	0
Skelett Ratte	7	14	Skelett Ratte	1	4
Herzmusk. Ratte	9	13	Herzmusk. Ratte	1	3

Die Tabelle zeigt die Wechselbeziehungen zwischen negativen CRP-Testen und den Immunfluoreszenzversuchen auf der einen Seite und positiven CRP-Testen (mit + bezeichnet) und den Immunfluoreszenzen auf der anderen Seite.
Bei der glatten Muskulatur der Ratte sind bei 8 von 15 vergleichenden Untersuchungen positiv/negativ Abweichungen festzustellen. (53,3%) Die Ergebnisse bei der Skelettmuskulatur (15/27) divergieren um 57,7%. 53,8% der Versuche beim Herzmuskel der Ratte zeigten ein unterschiedliches Ergebnis. 14 von 26 Testen waren unterschiedlich.
Hieraus läßt sich entnehmen, daß zwischen dem Auftreten der untersuchten Antikörper und dem Auftreten des C-reaktiven Proteins keine parallelen Beziehungen bestehen. Es kann angenommen werden, daß die hier getesteten Antikörper auch außerhalb einer entzündlichen Phase beobachtet werden können.

IV. Diskussion:

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß Antikörper gegen die drei Muskelarten: Herzmuskulatur, quergestreifte Muskulatur und glatte Muskulatur und gegen die Interzellularsubstanzen dieser Gewebe häufig in Patientenseren gemeinsam vorkommen. Nach den Untersuchungen von Kaplan existiert im Sarkolemm des Herzmuskels und quergestreiften Muskels ein gleiches Antigen, welches in anderen Geweben nicht vorkommt (8,14). Doch kommen offenbar auch Antikörper gegen andere Antigene des Herzmuskels vor, die organspezifisch oder nicht organspezifisch, speziesspezifisch oder nicht speziesspezifisch sein können (13). Nach den hier vorliegenden Untersuchungen weisen mehrere Seren von Patienten mit Herzerkrankungen und Antikörpern gegen Herzmuskulatur zusätzlich auch noch Antikörperaktivitäten gegen glatte Muskulatur der Ratte auf. Umgekehrt reagierten Seren von Patienten mit chronischen Lebererkrankungen, die ebenfalls Antikörper gegen glatte Muskulatur der Ratte aufwiesen, mehrfach mit Herz- und Skelettmuskelgewebe. Damit wird die diagnostische Wertigkeit dieser Antikörper eingeschränkt. Der Antikörper gegen glatte Muskulatur der Ratte galt zunächst als spezifisch für chronische aktive Hepatitis (11,12,30,31). In letzter Zeit wurde der Antikörper jedoch auch bei akuter Hepatitis (9), malignen Tumoren (10,32), Virusinfekten (11) und bei Mononucleose beobachtet (9,10). Eine Plasmafluoreszenz am quergestreiften Muskel und Herzen erzeugen auch Antikörper gegen Mitochondrien, die unter anderem bei primär biliärer Zirrhose (4) und dem neubeschriebenen Krankheitsbild des Pseudo-LE-Syndroms (19,25) gefunden werden. Es ist möglich, daß früher beschriebene Fälle von Myokarditis mit Antikörpern gegen Herzmuskelplasma Fälle von Pseudo-LE waren, der mit einer Myokarditis einhergehen kann. Auch beim Lupus erythematodes disseminatus können Herzantikörper gefunden werden (6). Bei Myasthenia gravis und Tumoren wird ebenfalls eine Plasmafluoreszenz der quergestreiften Muskulatur beobachtet, die sich aber durch die ausgeprägte Querstreifung der Myofibrillen unterscheidet (28). Kaplan beobachtete die diffuse Plasmafluores-

zenz (D-Fluoreszenz) am Herzmuskel bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen ohne Spezifität für bestimmte Erkrankungen (14). Das Fluoreszenzmuster von Antikörpern gegen kollagene Fasern ist wie die Sarkolemm-Subsarkolemmfluoreszenz auf das Gewebe zwischen den Muskelfasern beschränkt und kann auch an anderen Geweben nachgewiesen werden (18,26,27).

Der Sarkolemm-Subsarkolemm-Antikörper wird bei rheumatischem Fieber (33), beim Postmyokardiotomie-Syndrom, nach Herzinfarkt (16), bei Myokarditis (22,23) und idiopathischer Kardiomyopathie (5,21) gefunden. Der Kliniker wird weniger nach Herzinfarkten und Myokardiotomie an den Antikörpernachweisen interessiert sein, sondern eher bei fraglichem rheumatischem Fieber und insbesondere bei Verdacht auf Myokarditis, da wenige andere Parameter diese Diagnose zuverlässig stützen können. Wie die hier vorliegenden Untersuchungen jedoch zeigen, können Antikörper gegen Herzmuskelgewebe aber auch bei anderen Erkrankungen vorkommen, sodaß auch ein positiver Herzmuskelantikörpernachweis eine Myokarditis nicht mit Sicherheit beweisen kann. Die häufige gemeinsame Reaktion der Antikörper gegen Herzsarkolemm auch mit Sarkolemm des quergestreiften Muskels läßt an die Möglichkeit denken, daß die zirkulierenden Antikörper des menschlichen Serums sich auch an Muskelsarkolemm binden. Das eröffnet die Möglichkeit, diese gebundenen Antikörper mit der Methode der direkten Immunfluoreszenz nachzuweisen, indem man quergestreiften Muskel, der sich durch eine Probeexcision herausnehmen läßt, mit fluoresceinmarkiertem Anti-Human-Gamma-Globulin überschichtet. Ablagerungen von zirkulierenden Antikörpern am Herzmuskel bei rheumatischem Fieber können immunhistologisch nachgewiesen werden (15).

Nach den vorliegenden Untersuchungen reagieren zahlreiche Seren auch auf Rattengewebe, was von verschiedenen Autoren beschrieben wurde (1-3,29), doch wurden höhere zahlenmäßige Übereinstimmungen von Antikörpernachweisen an menschlicher Herz- und Skelettmuskulatur in der vorliegenden Untersuchung gefunden als an menschlichen Herzen und Rattenherzen. Frische menschliche quergestreifte Muskulatur ist für Routineuntersuchungen nicht

schwer zu beschaffen, so daß der Antikörpernachweis auf quergestreifter Muskulatur empfohlen werden kann. Gleichzeitig ist der menschliche Skelettmuskel zum Antikörpernachweis bei Myasthenia gravis und dem Thymom geeignet (28). Glatte Muskulatur des Menschen wurde nicht verwendet, da der Antikörpernachweis an glattem Rattenmuskel (7,9,12) dem am menschlichen bekanntermaßen deutlich überlegen ist.

V. Zusammenfassung:

Seren von 233 Patienten wurden auf Antikörper gegen Herzmuskel und quergestreiften Muskel des Menschen und der Ratte sowie gegen glatte Muskulatur der Ratte untersucht. Herzmuskulatur und quergestreifte Muskulatur reagierten in der Mehrzahl der Fälle gleich, während sich die glatte Muskulatur der Ratte als Antigen vielfach anders verhielt. Am häufigsten wurden Antikörper beim Postmyokardiotomie-Syndrom gefunden, gefolgt von chronischen Lebererkrankungen, Myokarditis und Zustand nach Herzinfarkt.

Anstelle vielerorts nicht erreichbarem frischen Herzmuskelgewebe kann nach den vorliegenden Untersuchungen menschlicher Skelettmuskel zum Antikörpernachweis besser verwendet werden als Herzmuskelgewebe der Ratte.

VI. Literaturverzeichnis

1.) Bachmann, G.W.; Fritsch, H; Rapp, W;
Immunologische Untersuchungen zum postcardiotomie Syndrom.
Verh. Deutsch. Ges. Inn. Med. 74 (545) 1968

2.) Bachmann, G.W.; Rapp, W;
Über das Vorkommen von interparenchymatösen Hetero-antikörpern beim Menschen.
Verh. Deutsch. Ges. Inn. Med. 74 (542) 1968

3.) Bachmann, G.W.; Rapp, W;
Autoantikörpernachweis bei Herzerkrankungen unter Verwendung der indirekten Immunfluoreszenz.
Ver. Deutsch. Ges. Inn. Med. 73 (756) 1967

4.) Brunner, G; Vido. J, Schmidt G.
Die Diagnose der primär-biliären Zirrhose.
Dtsch. med. Wschr. 97 (1448) 1972

5.) Camp, F.T.; Hess, E.V.; Conway G; Fowler N.O;
Immunologic findings in idiopathic cardiomyopathy
Amer. Heart. J. 77/5 (610) 1969

6.) Das, S.K.; Cassidy J.T.
Antiheart antibodies in patients with systemic lupus erythematodes
Am. J. Med. Sci. 265 (275) 1973

7.) Doniach, D.
Autoimmunity in liver diseases
Progr. in Clinical Immunology Vol. 1 (45-70)

8.) Espinosa, E.; Kaplan, M.H.
Antigenic analysis of human heart tissue
J. Immunol. 106 (611) 1971

9.) Holborow, E.J.; Johnson, G.D.; Farrow, L.;
Zuckermann, A.J.; Taylor, P.E.
Immunofluorescent detection of autoantibodies in the sera of acute infective hepatitis patients
Ann. N.Y. Acad. Sci. 177 (214) 1971

10.) Holborow, E.J.
Smooth muscle antibodies, viral infections and malignant disease
Proc. roy. Soc. Med. 65 (481) 1972

11.) Holborow, E.J.; Hemsted, E.H. Mead, S.V.
Smooth muscle antibodies in infectious mononucleosis
Brit. Med. J. 3 (323) 1973

12.) Johnson, S.D.; Holborow, E.J.; Glynn, L.E.;
Antibody to smooth muscle in patients with liver disease
Lancet 2 (878) 1965

13.) Kaplan, M.H.; Frengley, J.D.
Current concepts of the relation of autoimmunity to rheumatic fever, postcardiotomy and postinfarction syndromes and cardiomyopathies
Americ. J. Cardiol. 24 (459) 1969

14.) Kaplan, M.H.
Autoimmunity to the heart and its relation to heart disease
Progr. Allergy 13 (408) 1969

15.) Kaplan, M.H.; Meyeserian, M.; Kushner, I.;
Immunologic studies of heart tissue IV
J. exp. Med. 113 (17) 1961

16.) Katsmann, R.F.;
Autoimmune reactions in myocardial infarction
Kardiologiia 13 (41) 1973

17.) Liemert, G.A.
Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik Bd. I
Verlag Anton Hain 1973

18.) Ludwig, H.;
Kollagenasebehandlung von Gewebsschnitten, ein Spezifitätsnachweis von Antikollagenseren mit Immunfluoreszenz
Z. Immun.-Forsch. 146 (1) 1973

19.) Maas, D.; Schubothe, H.;
Ein lupus erythematodes ähnliches Syndrom mit antimitochondralen Antikörpern
Dtsch. Med. Wschr. 98 (131) 1973

20.) Sachs, L.;
Statistische Auswertungsmethoden
Springer, Heidelberg, 1971

21.) Sack, W.; Wachsmuth, E.D.;
Nachweis von Autoantikörpern bei Myokardopathien
Verh. Deut. Ges. Inn. Med. 78 (859) 1972

22.) Sanders, V.;
Viral myocarditis
Amer. Heart J. 66 (707) 1963

23.) Schenk, K.E.; Groß, U.M.
Experimentelle Immunmyokarditis
Zeitschrift für Kardiologie 63 (848) 1974

24.) Sennekamp, J.; Brunner, G.; Stroehmann, I.;
Simultaner Kern- und Mitochondrien-Antikörpernachweis in der Immunfluoreszenz
Dtsch. Med. Wschr. 98 (1223) 1973

25.) Sennekamp, J.; Krasemann, Ch.; Stroehmann, I.;
Schoroth, P.;
Mitochondrienantikörper bei entzündlichen Erkrankungen
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 80 (1648) 1974

26.) Steffen, C.; Dichtl, M.; Brunner, H.;
Immunogenicity and specificity of collagen
Z. Immun. Forsch. 140 (408) 1970

27.) Steffen, C.;
Immunogenicity and specificity of collagen
XII. Demonstration by immunfluorescence and haemagglutination of antibodies with different specificity to human collagen
Immunology 21 (649) 1971

28.) Stroehmann, I.; Ricken, D.; Naubereit, M.;
Bruchhausen, D.;
Zur Immunpathogenese der Myasthenia gravis
Vergleich myasthenischer Skelettmuskelantikörper mit Kaninchen- und Rattenantikörpern nach Immunisierung mit Skelettmuskelprotein
Res. exp. Med. 160 (181) 1973

29.) van der Geld, H.;
Anti-heart antibodies in the postpericardiotomy and the postmyocardial and infarction syndromes
Lancet II (617) 1971

30.) Visher, T.L.;
Immunologic aspects of chronic hepatitis
Progr. Allergy 15 (268) 1971

31.) Visher, T.L.;
Australia antigen and autoantibodies in chronic hepatitis
Brit. med. J. 2 (695) 1970

32.) Whitehouse, J.M.;
Smooth muscle antibodies in malignant disease
Nouv. Rev. Fr. Hematol. 12 (383) 1972

33.) Zabriskie, J.; Hsu, C.; Seegal, B.C.;
Heart-reactive antibody associated rheumatic fever; characterization and diagnostic significance
Clin. exp. Immunol. 7 (147) 1970

Ich danke Herrn Prof. Dr. Dengler für die freundliche Überlassung des Themas und Frau Dr. Hildenbrand für die Durchsicht des statistischen Teils dieser Arbeit.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit gebe ich die eidesstattliche Erklärung ab, daß ich die vorliegende Arbeit ohne unerlaubte Hilfe angefertigt habe, das benutzte Schrifttum vollständig angegeben habe, und daß die Arbeit noch von keiner anderen Fakultät abgelehnt worden ist.

Bonn, den 20.9.1975

Michael Bolte

Lebenslauf

Am 1.11.1947 wurde ich als Sohn des Bauingenieurs Alexander Doktor und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Winkler, in Bochum geboren.

Von Ostern 1954 bis Ostern 1958 besuchte ich die Friederika-Volksschule und anschließend bis März 1963 das Graf-Engelbert-Gymnasium in Bochum.

Im März 1963 wechselte ich zum Märkischen Gymnasium in Iserlohn, an dem ich am 15.7.1967 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1967 begann ich mein zahnmedizinisches Studium an der Universität Köln. Nach dem Physikum im Sommersemester 1970 habe ich dort im Sommersemester 1973 mein Staatsexamen abgelegt.

Seit dem 1.10.1973 bin ich im Rahmen meines Wehrdienstes als Truppenzahnarzt bei der Bundeswehr tätig. Am 1.10.1975 wurde ich als Stabsarzt der Reserve entlassen.

Ich beabsichtige anschließend, eine Assistentenstelle an der Universitätszahnklinik in Köln anzunehmen.

Michael Doktor